

**Studien zur Wirkung und Inaktivierung von Sekretin
am isoliert durchströmten Hundepankreas**

Rolf Dombrowsky

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555611_0102

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn

Studien zur Wirkung und Inaktivierung von Sekretin am
isoliert durchströmten Hundepankreas

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilian-Universität zu München



vorgelegt von

Rolf Dombrowsky

aus

Hausham

1976

Mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. M. M. Forell

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.1976



MEINEM VATER

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. <u>Einleitung und Fragestellung</u>	1
1.1. Einleitung	1
1.2. Fragestellung	4
2. <u>Material und Methodik</u>	6
2.1. Material	6
2.2. Methodik	7
3. <u>Ergebnisse</u>	12
4. <u>Diskussion</u>	36
5. <u>Zusammenfassung</u>	48
6. <u>Literaturangaben</u>	50

1. Einleitung und Fragestellung

1.1. Einleitung

Aus der Ähnlichkeit des sekretinstimulierten Sekretionsverhaltens am isoliert perfundierten Hundepankreas und der vergleichbaren Größenordnung der biologischen Halbwertszeiten in vivo (8) und im geschlossenen Perfusionssystem unserer Versuchsanordnung (21) ergibt sich die Frage nach der Inaktivierung von Sekretin. Hierfür bestehen in einem vom Gesamtorganismus getrennten, isoliert durchströmten Organ folgende Möglichkeiten:

- a) Elimination durch Bindung an den Rezeptor bzw. Abbau an der target-Zelle, z. B. durch proteolytische organgebundene Inaktivatoren,
- b) Hemmung durch vom Organ poststimulatorisch liberierte praeexistente oder im Verlauf des Sekretionsprozesses entstehende, physiologische oder methodisch bedingte pathologische Substanzen,
- c) die Existenz von bis dato hypothetischen physiologischen inaktivierenden Plasmafaktoren.

Es entfallen in einem solchen System jedoch die von verschiedenen Autoren beschriebenen postulierten und zum Teil auch gesicherten Eliminations- und Inaktivierungsvorgänge der Leber, Niere und Lunge (1, 3, 4, 6, 10, 11, 12, 13, 16, 17).

1937 beschrieben Hammersten und Agren (5) bereits eine Labilität ihrer Sekretinpraeparationen gegenüber proteolytischen Enzymen. Einige Jahre später fand Greengard et al (3) ein Enzym im Blut, Serum und Plasma, das er Sekretinase nannte und dem er einen proteolytischen Charakter absprach. Dieses Enzym war hitzelabil, verlor seine Aktivität außerhalb eines pH-Bereiches von 5 - 8 und zeigte starke Konzentrationsabhängigkeit. Derselbe Autor fand auch eine Inaktivierung von Sekretin im Urin (4). Rogers (13) wies 1951 wieder auf einen proteolytischen Abbau von Sekretin hin, der durch einen Inaktivator aus Sojabohnen verhindert werden konnte.

Mehrere Forschungsgruppen untersuchten auch den Einfluß anderer Organe - speziell der Leber und Niere -, die den Abbau bzw. die Elimination von Sekretin beeinflussen könnten. Mellanby (11) bzw. Hart und Clarke (6) fanden nach Sekretin-injektion in die Portalvene bzw. in eine periphere Extremitätenvene keinen Unterschied in der exkretorischen Sekretion.

Necheles (12) diskutiert für sein Ergebnis aus den Versuchen mit radioaktivjodmarkiertem Sekretin, in denen er einen Aktivitätsverlust nach Durch-

strömung der Leber fand, die Möglichkeiten einer "Sekretinase" in der Leber, die strukturelle Umwandlung des Hormons in ein inaktives Molekül oder auch eine Speicherung mit späterer potentieller Freisetzung. Dieses Resultat des Aktivitätsverlustes nach Durchströmung der Leber wurde von Way et al. (17), Skillman et al. (16), Bridgewater et al. (1) und Lehnert et al. (10) bestätigt. Bridgewater et al. (1) arbeitete in diesem Zusammenhang mit einem Leberhomogenat. Er fand eine hitzelabile "Sekretinase", mit einem Aktivitätsmaximum bei pH 3-5, welche neben Sekretin auch Haemoglobin und Casein abbaut und nach Meinung der Autoren dem Kathepsin zugeordnet werden könnte. Ein identisches proteolytisches Enzym fand Bridgewater auch in der Niere. Nach Lehnert et al. ist die Elimination bzw. Inaktivierung von Sekretin über die Niere im Vergleich zur möglichen Inaktivierung durch das Blut bzw. die Leber dominierend. Lehnert postuliert, daß Sekretin in der Niere zunächst filtriert, anschließend rückresorbiert und durch Proteasen der Tubuluszellen inaktiviert wird. Im Urin war weder eine Inaktivierung von exogenem Sekretin nachweisbar, noch gelang es aktives Sekretin im Urin durch einen Bioassay zu bestätigen.

1.2 Fragestellung

- 1.2.1. Besteht eine Abhängigkeit der Sekretionsantwort von der Hormonkonzentration oder von der Hormongesamtmenge?
- 1.2.2. Wird bei intraarterieller Injektion von Sekretin das Hormon quantitativ am Organ gebunden oder rezirkuliert ein Teil der Aktivität im Perfusionsmedium?
- 1.2.3. Wird Sekretin in vitro überhaupt inaktiviert; wenn ja:
 - 1.2.3.1. Geschieht dies an der Pankreaszelle selbst?
 - 1.2.3.2. Geschieht es durch ortsständige organgebundene Inaktivatoren?
 - 1.2.3.3. Erfolgt die Hemmung durch im Perfusat zirkulierende "Inaktivatoren"? Bei positiven Nachweis von plasmatischer Inaktivierung ergeben sich folgende zwei Möglichkeiten:
 - a) Besteht eine praeexistente plasmatische Inaktivierung?
 - b) Entsteht die "inaktivierende Potenz" erst im Rahmen einer sekretinbedingten Organstimulation?

1.2.4. Können die inaktivierenden Substanzen gehemmt werden?

1.2.5. Besteht die Möglichkeit, diese Substanzen in ihrer funktionellen Natur einzuordnen?

2. Material und Methodik (21)

2.1. Material

2.1.1. Reagentien

Liquemin ^R	Fa. Hoffmann - La Roche
Refobacin ^R	Fa. Merck
Nembutal ^R	Fa. Abbott
Glucose	Fa. Merck
NaHCO ₃	Fa. Merck
NaCl-Lsg. 0,9%	Fa. Braun Melsungen
Vollelektrolytlsg.	Fa. Braun Melsungen
Carbogen	Fa. Linde (95 % O ₂ ; 5 % CO ₂)
Sekretin	GJH Unit, Karolinska Institutet Stockholm
Trasytol ^R	Fa. Bayer
Inaktivator aus Sojabohnen	Fa. Merck, chromatogr. gereinigt
Benzamidin	Fa. Merck

2.1.2. Gerätschaften

wärmeregulierte Perfusionskammer	(hergestellt aus PVC nach eigenen Angaben) Fa. Hoffmann
Organkammer	dito
Rollerpumpe	Fa. Deuster
Dauerinfusionsapparat (Unita)	Fa. Braun Melsungen
Magnetrührer	Fa. Cenco

Thrombenfilter	Fa. Sartorius
Manometer	Fa.
Polyäthylensonden	Fa. Portex
PVC - Schläuche	Fa. Braun Melsungen
Perfusatgefäße	(hergestellt aus Jenaer Glas nach eigenen Angaben) Fa. Neumann
Oxygenatoren	dito
Meßzylinder	(geeicht, 5 ml und 100 ml) Fa. Assistent

2.1.2. Tiermaterial

Männliche und weibliche Bastardhunde mit einem Körpergewicht von durchschnittlich 20 - 30 kg

2.2. Methodik

2.2.1. Anästhesie

Die Narkotisierung erfolgte durch intravenöse Barbituratgabe. Die Tiere atmeten während der Operation spontan über einen Trachealtubus mit Sauerstoff angereicherter Zimmerluft.

2.2.2. Operation

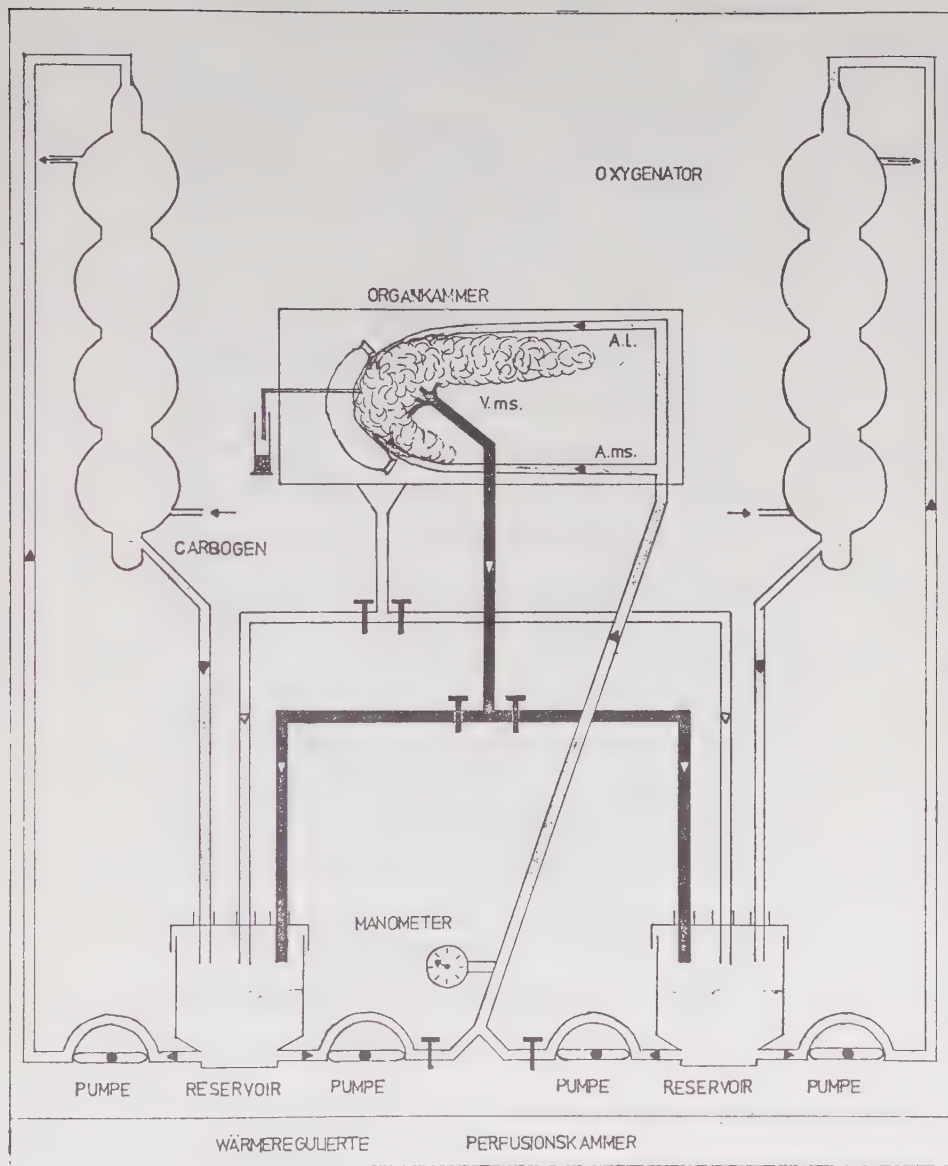
Venae sectio der rechten A. und V. femoralis zur Perfusatentnahme bzw. Volumenssubstitution; Eröffnung des Abdomens mittels oberen und unteren Medianschnitt; Splenektomie; Ligierung des Ductus choledochus und des Ductus pancreaticus accessorius

am Übergang zu ihren intramuralen Verlaufsstrecken; Sondieren des Ductus pankreaticus; Ligatur der A. gastrica sinistra; Durchtrennung des Pylorus; Ligatur sämtlicher abzweigender Gefäße der A. mesenterica superior, ausgenommen die A. pankreatoduodenalis; ebenso auch die Abzweigungen der V. mesenterica superior; Applikation von 5000 E Liquemin^R; Sondierung der V. mesenterica superior, der A. mesenterica superior und der A. lienalis; Anschluß an das sauerstoffgesättigte Blut des Perfusionssystems; Unterbindung und Durchtrennung der beiden arteriellen Gefäße an ihren aortalen Abgängen; aborale Durchtrennung des Duodenums; Unterbindung und Lösung der mesenterialen und peritonealen Verbindungen und des Leberhilus.

Durch die simultane Perfusion nach Sondierung der A. lienalis und A. mesenterica superior mit Blut aus dem in vitro System gelingt die weitere Präparation und vollständige Isolierung des Organs ohne Ischämie. Die Operationsdauer beträgt 60 - 90 Minuten.

2.2.3. Perfusionssystem

Siehe Zeichnung umseitig. Die Temperatur wurde auf 37° Celsius eingestellt; die Oxygenierung



erfolgte im Gegenstromprinzip mit einem Gasgemisch von 95 Vol % O_2 und 5 Vol % CO_2 .

2.2.4. Versuchsbedingungen

Die Versuche wurden zum Teil mit 1 Perfusions-system zu 400ml, zum Teil mit 2 - 3 parallelgeschalteten, voneinander getrennten Perfusions-systemen zu je 200ml heparinisierten, sauerstoff-gesättigtem prae- oder postoperativ entnommenen Blut des Versuchstieres durchgeführt. Eine ausreichende Durchmischung wurde durch einen Magnetrührer gewährleistet. Verluste, die durch Saftproduktion, duodenale Sekretion, Verdunstung und Entnahme für Bestimmungen entstanden, wurden durch Vollelektrolytlösung ausgeglichen. Die Organdurchblutung betrug durchschnittlich 30 ml/min (= 0,5 ml/min/g Organgewicht), der Systemdruck zwischen 60 und 110 mmHg.

Nach Transposition des Organs in die Organkammer folgte eine 30-minütige Vorperiode bis zum Erreichen konstanter Versuchsbedingungen. Glucose und Bikarbonat wurden nach in Vorversuchen ermittelten Werten bzw. kontinuierlicher Bestimmung des Plasmabikarbonates ersetzt. Die Applikation von Sekretin erfolgte durch intraarterielle oder intravenöse Injektion oder als Inkubation

in das jeweilige Sammelgefäß.

2.2.5. Bestimmungsmethoden

2.2.5.1. Im Perfusat

Fortlaufende Blutgasanalysen (art. und ven.)
nach der Äquilibrationsmethode von Astrup

(Fa. Hillerkus Krefeld, PHM₇₁ - BMS₂ und
O₂ -Elektrode BEU₁, Nomogramm von O. Sigaard
und Andersen)

Glucose (enzymatisch)

Lipase nach Weber (18)

Hb (photometrisch)

Hkt (mit Mikromethode)

2.2.5.2. Im Pankreassaft

Abnahme von 5 - minütigen Sammelfractionen
in geeichten Meßzylindern (5 ml = 50 Teilstriche)
Bikarbonatkonzentration nach Scribner IB.H. und
Caillouette J.C. (15)

Amylase nach Schön (14)

Gesamteiweiß nach Biuret

Chloridkonzentration durch Coulomb'sche Titration

Fa. EEL London

Osmolarität (Osmometer Fa. Knauer)

Trypsin nach Haverbaeck B.J. (7)

Lipase nach Weber (18)

3. Ergebnisse

Zunächst sollen durch Applikation von Sekretin in verschiedene Perfusatmengen und durch den Vergleich der Sekretionsantworten auf gleiche Sekretinmenge bei i.a. (intraarteriell) und i.p. (in das Blutreservoir) Applikation mit und ohne Rezirkulation Rückschlüsse

- a) auf die primär plasmatischen
- b) sekundär durch Stimulation des Organs entstehenden, d. h. vom Organ lieberierte Inaktivatoren gewonnen werden; außerdem soll durch den Vergleich von i.a. Injektion mit und ohne Rezirkulation die rezirkulierende Sekretinaktivität gemessen werden und ein Einblick in die bei einer Organpassage haftende Sekretinmenge gewonnen werden.

3.1. Der Vergleich von Saft- und Bikarbonatsekretion nach Injektion von identischen Sekretindosen

- a) in das Blutreservoir (i.p.)
 - b) direkt in das zuführende arterielle Gefäß (i.a.)
- zeigt, daß bei i.a. Applikation die Gesamtmenge des Pankreassaftes pro Einzelreiz signifikant größer ist als bei Gabe i.p. (Abb. 1). Die Bikarbonatsekretion verläuft proportional dem Saftfluß (Abb. 1). Ebenso läßt sich ein Unterschied bezüg-

lich der Kinetik des Saftflusses feststellen. Bei i.a. Injektion von Sekretin beginnt die Sekretion nach einer Latenz von $\bar{x} = 48''$, nach i.p. Applikation nach $\bar{x} = 118''$. In beiden Fällen wird die jeweilige maximale Sekretionsrate nach 1 - 2 Minuten erreicht. Bei i.a. Injektion fallen die Sekretionsraten von einem Maximum in Form einer logarithmischen Funktion erster Ordnung ab.

$$\text{Formel: } y = y_0 \cdot e^{-kt}$$

y_0 = Saftvol bei $t = 0$
 e = Basis des nat. log
 k = Geschwindigkeitskoeffizient
 t = Zeit

Nach i.p. Verabreichung äquivalenter Dosen liegen die maximalen Sekretionsraten signifikant tiefer, werden jedoch im Vergleich zur i.a. Gabe über längere Zeit (je nach Sekretindosis) aufrechterhalten und fallen dann in ähnlicher Weise ab (Abb. 2).

Die Dauer der Saftantwort pro Einzelreiz, i.a. bzw. i.p. ist gleich. Die Gesamtsaftmenge könnte demnach eine Frage der Initialkonzentration sein.

3.2. Um diese Abhängigkeit von der Konzentration des Sekretins im Perfusat weiter zu untersuchen, geben wir gleiche Dosen Sekretin innerhalb eines

Versuches in unterschiedliche, definierte Perfusatvolumina. Das Ergebnis dieser Versuchsserie entspricht den Resultaten aus Abb. 1. Die Saft- und Bikarbonatmenge pro Einzelreiz ist dem Perfusatvolumen umgekehrt proportional (Abb. 3).

Ist demnach die hydrokinetische Wirkung einer definierten Sekretindosis also nur von der Initialkonzentration, in der das Hormon das Organ erreicht, abhängig?

3.3. Sollte dem so sein, dürfte i.a. injiziertes Sekretin nach Organpassage nicht in effektiver Form rezirkuliert werden. Die folgenden Experimente sollen die möglicherweise aus dem Perfusatpool rezirkulierende Sekretinaktivität nach intraarterieller Injektion nachweisen.

Durch die i.a. Injektion äquivalenter Sekretinmengen wird zunächst eine identische Ausgangskonzentration im Organ gewährleistet. Abbildung 4 und 5 veranschaulichen an 4 repräsentativen Experimenten Saftfluß und Sekretionskinetik mit (x) und ohne (o) Rezirkulation des venösen Organabflusses. Sollten sowohl die Gesamtmenge des erhaltenen Saftes und der Bikarbonatoutput wie auch die Kinetik der Saftsekretion in beiden Versuchsmodellen (x, o) Übereinstimmen, müßte postuliert

ml HCO_3^- Gesamtmenge

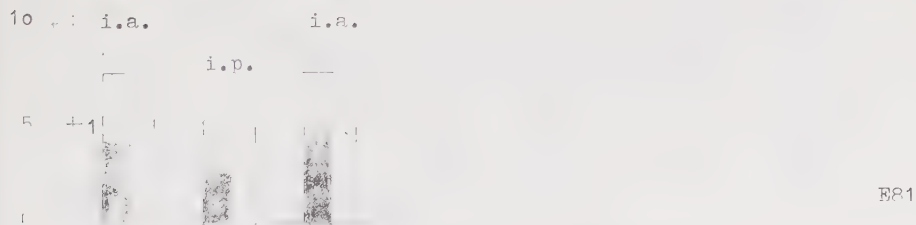
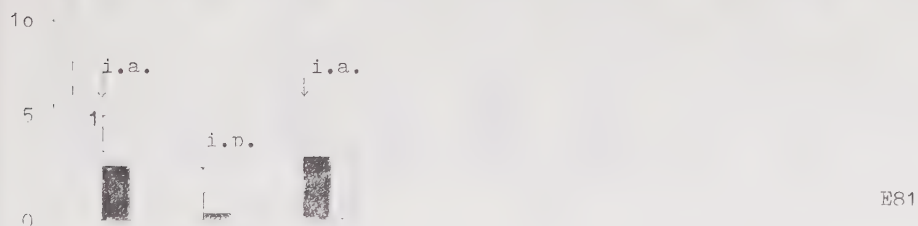
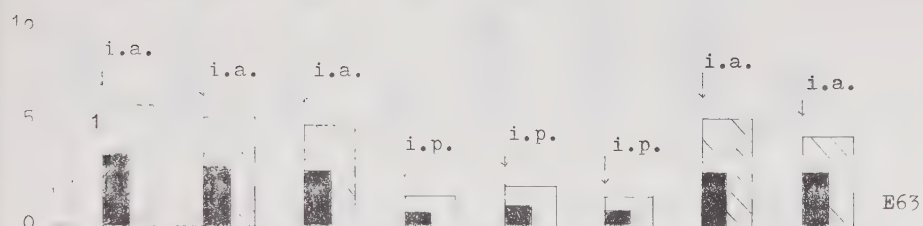
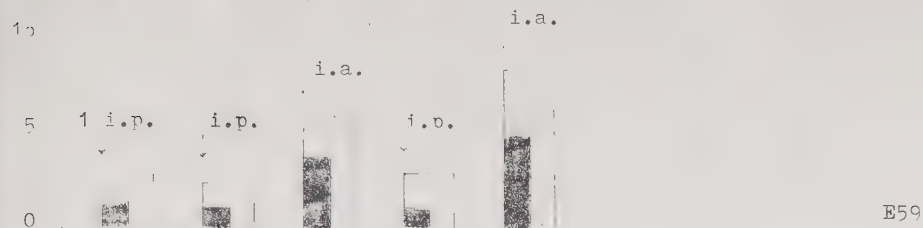
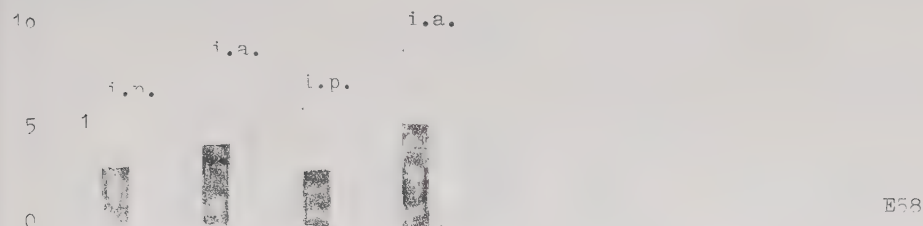


Abb.1 Vergleich von Saft- und Bikarbonatmenge nach
 Injektion von äquivalenten Mengen Sekretin
 1. intraarteriell (i.a.)
 2. in das Perfusionsreservoir (i.p.)
 schwarze Säulen bedeuten die Bikarbonatmenge

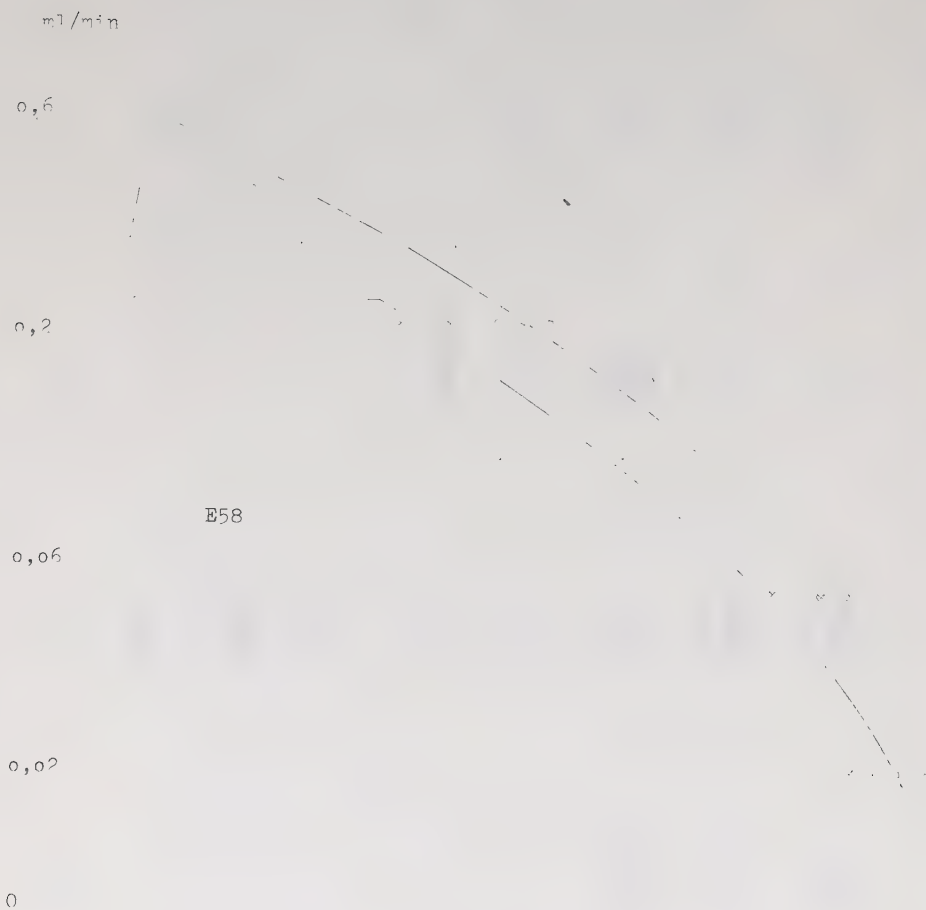
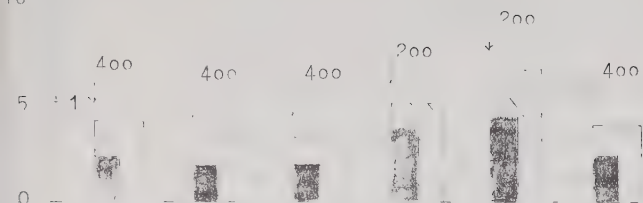


Abb.2 Vergleich der Sekretionskinetik nach Appli-
kation equivalenter Dosis Sekretin
1. intraarteriell (o)
2. in das Perfusionsreservoir (x)

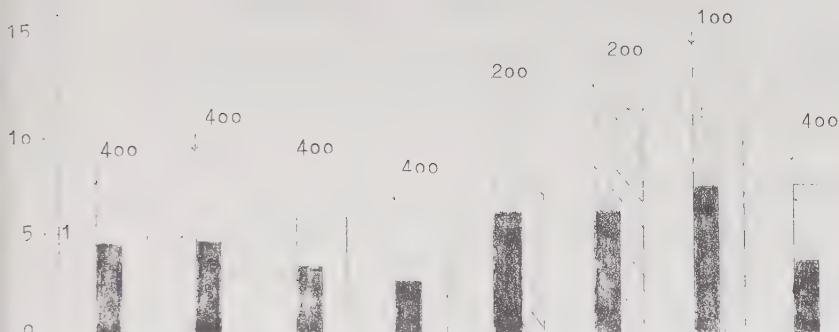
ml. Bikarbonat

10



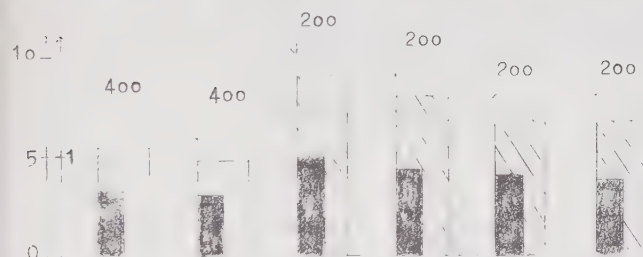
E24

15



E25

10



E26

10



E61

Abb.3 Vergleich von Saft- und Bikarbonatmenge nach Injektion äquivalenter Mengen Sekretin in unterschiedliche Perfusionsvolumina

werden, daß Sekretin in kleineren Dosen, wie sie in diesen Versuchen verwendet werden, bei einmaliger Organpassage quantitativ am Organ bzw. den Rezeptoren gebunden wird. In den Versuchen stellt sich heraus, daß die Gesamtmenge bei Rezirkulation des venösen Blutes signifikant höher liegt (Abb. 5). Außerdem fällt die Saft- und Bikarbonatsekretion bei den Versuchen ohne Rezirkulation in kürzerer Zeit auf den Ausgangswert (Basalsekretion) ab (Abb. 4, o).

Hieraus resultiert:

- a) Während einer einmaligen Organpassage wird ein Teil des im Perfusat gelösten Sekretins am Pankreas bzw. seinen Rezeptoren fixiert.
- b) Das höhere Saftvolumen pro Einzelreiz als auch die langsamere Abnahme der Sekretionsraten bei den Versuchen mit Rezirkulation sprechen für die Rezirkulation effektiver Sekretinmengen nach Organpassage.

3.4. Neben der Frage der Konzentration ist aber nach den Ergebnissen aus Abb. 3 eine Veränderung der Sekretinaktivität durch das Perfusat selbst auszuschließen. Deshalb wird Sekretin als Einzelinjektion gegeben und seine Wirkung mit der Wirkung äquivalenter Dosen nach Inkubation in das

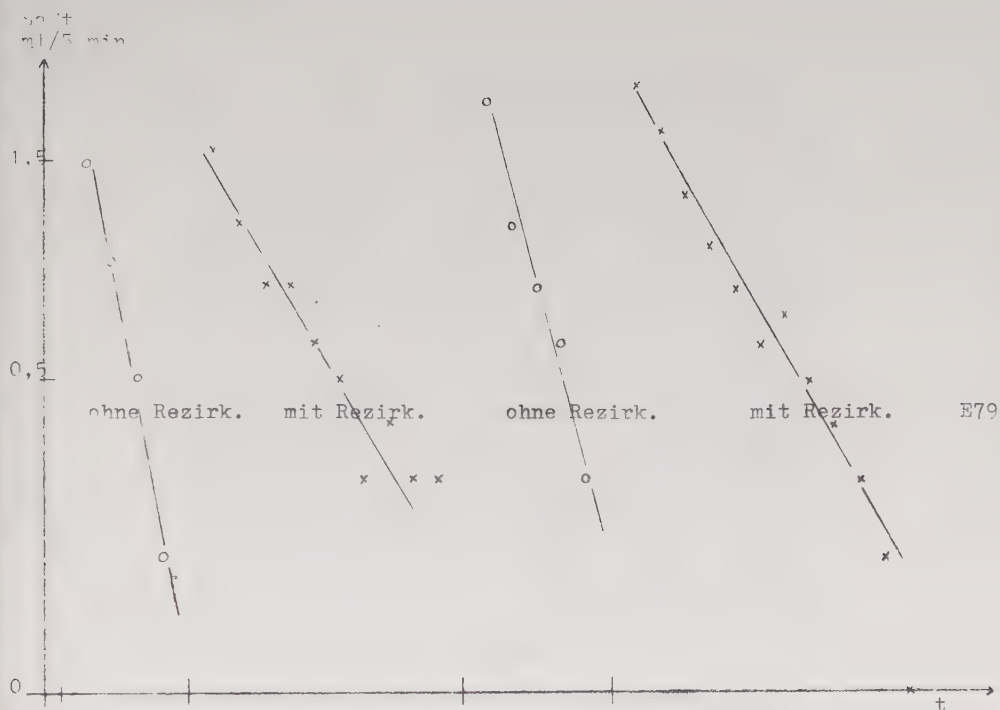


Abb. 4 Vergleich einer i.a. Applikation mit (x) und ohne (o) Rezirkulation des Perfusates bez. der Kinetik 1/2 IE Sekretin



Abb. 5 Vergleich der Saft- und Bikarbonatgesamtmenge bei i.a. Applikation von Sekretin mit und ohne Rezirkulation

Perfusionsmedium verglichen.

3.4.1. Vergleich der hydrokinetischen Wirkung äquivalenter Sekretinmengen nach i.p. Injektion und Inkubation über eine Zeitdauer von 40 - 90 Minuten in einer äquivalenten Perfusatmenge mit Carbogen-begasung erhaltener Zirkulation`

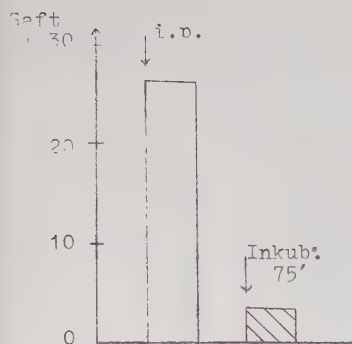
Dieser Vergleich zeigt eine Inaktivierung von Sekretin durch die Inkubation in postoperativ entnommenen Medium, das während der Vorperiode mit dem isolierten Organ in Berührung gekommen war, von $\bar{x} = 76\%$ ($\pm$ SE = 7,6; n = 5) im Vergleich zur i.p. Injektion = 100% (Abb. 6; Tab. I).

Tabelle I

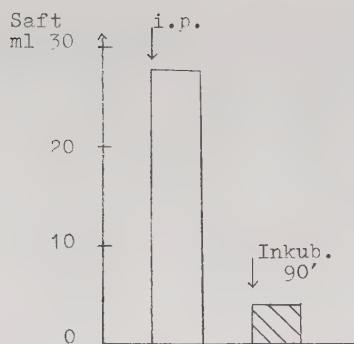
Versuch Injektion i.p. Inkubation % der Inaktivierung

	(ml) = 100%	(ml)	
28	17,25	5,25	70
31	14,70	7,70	47
32	26,70	4,10	83
33	27,80	4,20	83
34	12,90	0,50	97

3.4.2. Die Möglichkeit einer Liberierung von Inaktivatoren während der Operation und bei der Organperfusion während der Vorperiode (siehe Kapitel Methodik) soll durch Inkubation von Sekretin in



E32



E33

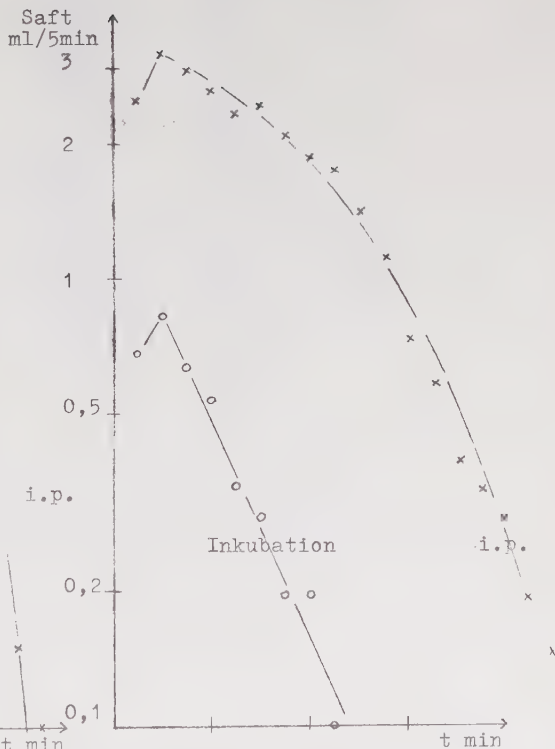
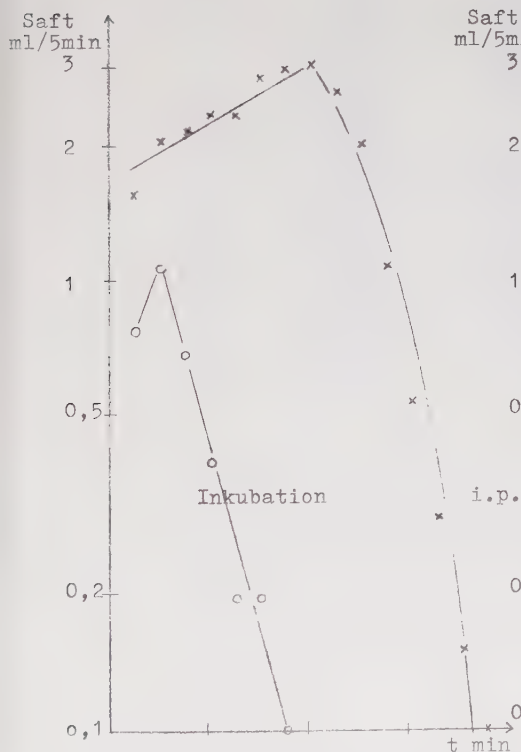


Abb.6 Vergleich von Gesamtsaftmenge und Sekretionskinetik zwischen i.p. Injektion und nachfolgender Inkubation von Sekretin in identisches postoperativ entnommenes Perfusat.

praeoperativ entnommenes arterielles Blut ausgeschlossen werden.

Zudem wird in einer weiteren Versuchsserie nach Laparatomie, Sondierung des Ductus pankreaticus und Ablauf eines intraarteriell verabreichten Sekretinreizes in vivo arterielles Blut für Inkubationszwecke verwendet, um etwaige in vivo nach Stimulation liberierte "Inaktivatoren" nachweisen zu können.

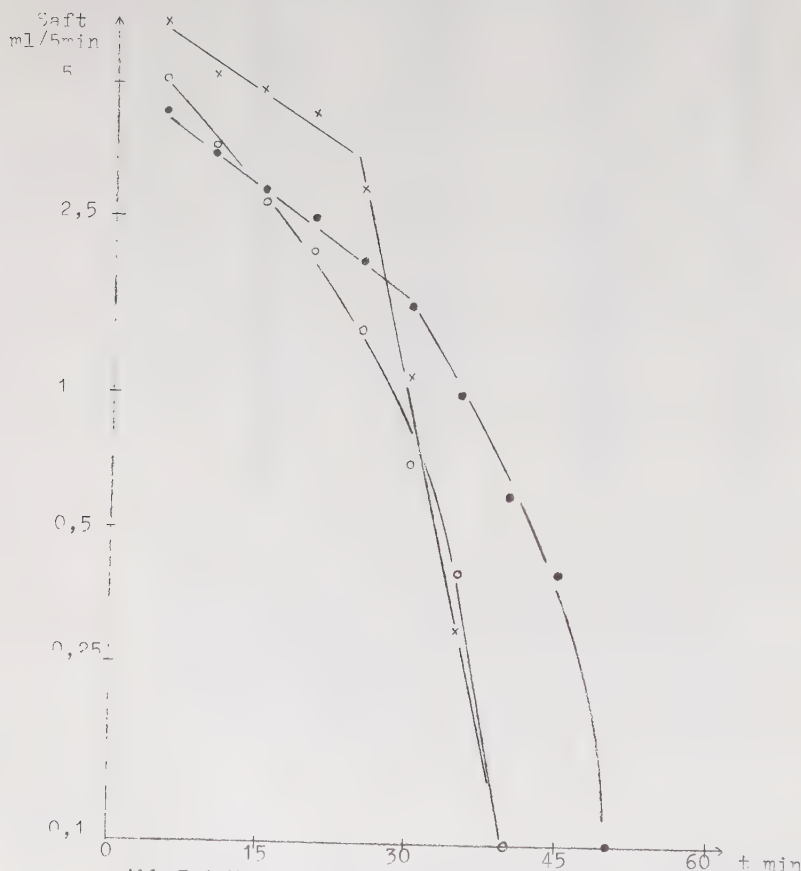
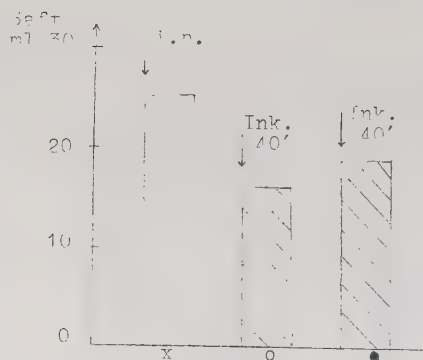
Ergebnis: Beide Inkubationsmedien zeigen eine signifikante mittlere Inaktivierung von $\bar{x} = 24\%$ ($\pm SE = 7,3$; $n = 30$) gegenüber einer vorangehenden Äquivalenzdosis als i.p. Einzelinjektion in ein parallelgeschaltetes volumenmäßig identisches Perfusat (Abb. 7; Tab. II). Erfahrungsgemäß nimmt bei mehreren aufeinanderfolgenden Injektionen das Saftvolumen initial ab, um dann konstant zu bleiben.

Tabelle II

Versuch Injektion i.p. Inkubation % der Inaktivierung

	(ml) = 100%	(ml)	
29	16,00	13,20	17
30	13,75	18,80	-35
36	20,70	27,60	-35
39	30,00	16,40	47
39	30,00	37,90	-28
40	19,80	8,00	52,5
40	19,80	12,00	40
41	43,90	26,00	42
41	43,90	35,30	22
42	22,00	28,70	-38
42	22,00	40,50	-85
45	25,55	17,20	22
45	25,55	31,10	-38
46	6,20	6,80	-10
47	21,60	9,80	53
47	21,60	12,90	43
48	31,65	15,30	53
49	19,40	9,60	50
49	19,40	6,30	70
50	55,55	24,60	54
50	55,55	33,80	38
51	25,15	16,10	37
51	25,15	18,90	24
52	16,00	9,20	44
52	16,00	9,30	44
53	28,05	9,50	66
53	28,05	10,30	63
54	21,50	12,80	45
54	21,50	24,25	-15
74	23,20	6,95	69

3.4.3. Wird die Wirkung von Sekretin nach Inkubation in praeoperativ entnommenes Blut mit einem nachfolgenden äquivalenten Einzelreiz i.p. verglichen, so ergibt sich diesem gegenüber keine signifikante Differenz $\bar{x} = 102\%$ ($\pm SE = 9,1$; $n = 19$) (Tab. III), das heißt, der Einzelreiz i.p.



B51

Abb.7 1. Vergleich von Gesamtsaftmenge und Saftkinetik zwischen i.p. Injektion und Inkubation von Sekretin in praeoperativ entnommenes Medium.
2. Vergleich von Gesamtsaftmenge und Saftkinetik zwischen zwei Inkubationen von Sekretin in identische praeoperativ entnommene Perfusate.

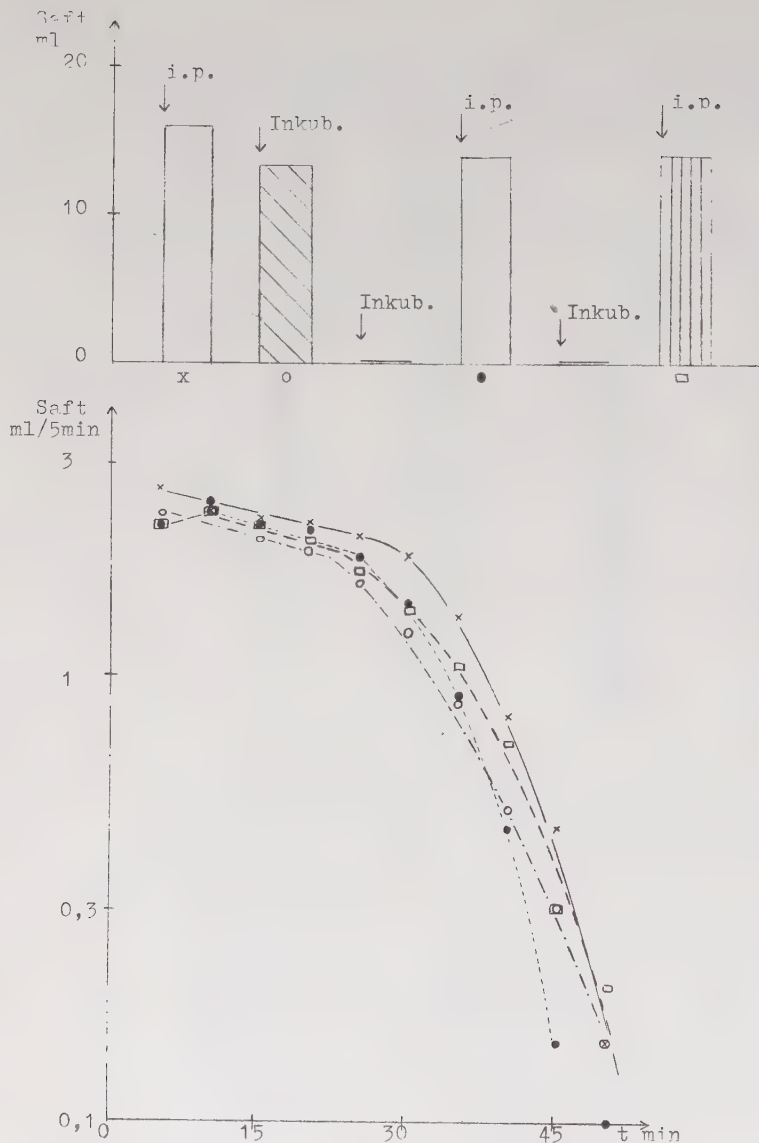
unterliegt der gleichen Aktivitätseinbuße wie die Inkubation (Abb. 8).

Tabelle III

Versuch Injektion i.p. Inkubation % der Inaktivierung

	(ml)	(ml) = 100%	
29	13,95	13,20	- 5
30	11,90	18,80	35
36	17,80	27,60	37
38	6,90	15,20	65
39	39,00	37,90	- 2
40	11,55	8,00	-33
40	16,50	12,00	-35
41	53,00	35,30	-50
42	47,00	28,70	-62
42	35,70	40,50	12
45	16,10	17,20	8
45	16,20	31,10	45
46	3,60	6,80	42
48	21,80	15,30	-50
50	40,00	33,80	-19
51	22,50	16,10	-55
51	22,80	18,90	-31
52	5,35	9,20	40
52	7,65	9,30	17

3.4.4. Die starke Inaktivierung von Sekretin bei Inkubation in postoperativ entnommenes Blut, das während der Vorperiode mit dem Organ in Berührung kam, kann einerseits auf operationsbedingte Traumatisierung und dadurch entstehende Ausschüttung von Inaktivatoren, andererseits durch während der Vorperiode physiologischer- oder pathologischerweise vom Organ ausgeschütteter Inaktivatoren bedingt sein. Da praeoperatives Perfusat keine



E29

Abb.8 1. Vergleich von i.p. Injektion und Inkubation in praeoperatives Medium (Säulen 1 und 2)
 2. Vergleich von i.p. Injektion und nachfolgender Inkubation und von 2 aufeinanderfolgenden Inkubationen (Säulen 1 und 3; 2 und 5)
 3. Vergleich einer Inkubation in praeoperatives Medium mit einer i.p. Injektion nachfolgend (Säulen 2 und 6)
 4. Vergleich von Inkubationen in poststimulatorisches Medium mit nachfolgenden i.p. Injektionen (Säulen 3 u. 4; 5 u. 6)
 5. Kinetikvergleich der i.p. Injektionen mit der Inkubation in praeoperativ entnommenes Perfusat.

wesentliche Inaktivierung ergibt (Abb. 8), nach Ablauf einer Stimulation - in unseren Versuchen nach Ablauf einer Inkubation von Sekretin - eine nachfolgende Inkubation jedoch zu einer vollen Inaktivierung führt (Tab. IV), scheint dieses Phänomen mit dem Sekretionsprozeß ursächlich in Zusammenhang zu stehen und möglicherweise der Nachweis physiologischerweise liberierter Inaktivatoren zu sein.

(siehe Diskussion) (Abb. 8)

3.4.5. Überraschend ist die Tatsache, daß bei zwei aufeinanderfolgenden Inkubationen in jeweils identische, praeoperativ entnommene Blutvolumina die zweite Inkubation eine größere Saftmenge ergibt (Abb. 7; Tab. V). Eine schlüssige Erklärung hierfür kann von uns nicht gefunden werden.

Tabelle IV

Versuch 1. Inkubation 2. Inkubation % der Inaktivierung

	(ml) = 100%	(ml)	
29	13,20	0,00	100
30	18,80	0,20	100
36	27,60	0,10	100
39	16,40	1,70	95
39	37,90	7,60	80
40	8,00	0,45	95
40	12,00	0,00	100
41	26,00	0,10	100
45	31,10	0,00	100
46	6,80	0,00	100
48	4,00	0,00	100
74	6,95	7,00	0
75	24,10	9,05	62
75	18,80	15,70	16
77	6,80	0,00	100
77	3,50	0,10	100

Tabelle V

Versuch 1. Inkubation 2. Inkubation

	(ml)	(ml)
39	16,40	37,90
40	8,00	12,00
41	26,00	35,50
42	28,70	40,50
45	17,20	31,10
46	6,80	17,30
47	9,80	12,90
50	24,60	33,80

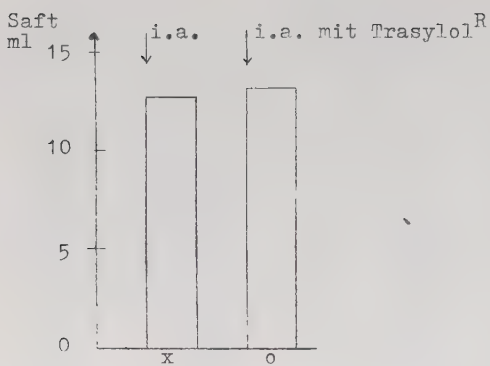
3.5. Unter der Annahme einer proteolytischen Inaktivierung von Sekretin im Perfusionsmedium versuchen wir durch verschiedene Proteaseninhibitoren mit jeweils unterschiedlichem Hemmspektrum die verantwortlichen Inaktivatoren einzugruppieren.

Durch Verwendung von Inaktivatoren unter Beibehaltung bereits beschriebener Versuchsanordnungen und im Vergleich mit den eingangs aufgezeigten Ergebnissen soll differenziert werden

- a) das Ausmaß der proteolytischen Inaktivierung am Organ selbst
- b) das Ausmaß der Inaktivierung im praeoperativ entnommenen Blut = genuine plasmatische Inaktivierung
- c) das Ausmaß der Inaktivierung im poststimulatorischen Perfusionsmedium = sekundäre plasmatische Inaktivierung.

Zunächst verwenden wir den polyvalenten Proteaseninhibitor Trasylol^R (basischer Trypsin-Kallikrein-Inaktivator BPTI).

3.5.1. Durch i.a. Applikation von Sekretin ohne Rezirkulation des Perfusionsmediums mit und ohne Trasylol^R, wie auch durch Leerversuche mit Trasylol^R, können wir seine Eigenaktivität auf den Saftfluß ausschließen.



E62

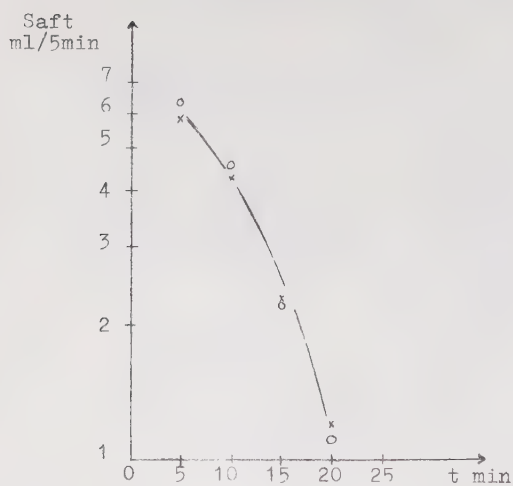


Abb.9 Vergleich der Gesamtsaftmenge und der Sekretionskinetik bei i.a. Applikation von Sekretin ohne Rezirkulation des Perfusionsmediums mit und ohne Trasylol^R

Wie Abbildung 9 zeigt, ist bei einmaliger Organpassage ohne Rezirkulation von Sekretin mit und ohne Trasylol^R das Saft- und Bikarbonatvolumen wie auch der Abfall der Sekretionsraten identisch.

3.5.2. Eine Wiederholung der auf Seite beschriebenen Versuche (Versuche von i.a. und i.p. Applikation) nach Zugabe von 25 - 50 000 KIE Trasylol^R in das Perfusionsmedium ergibt folgende Ergebnisse.

- a) Die Differenz bezüglich des Saft- und Bikarbonatoutput nach i.a. und i.p. Injektion von Sekretin ist nun nicht mehr festzustellen (Abb. 10).
- b) Der Unterschied der Sekretionskinetik bleibt bestehen (Abb. 10).
- c) Die Gesamtmenge von Saft und Bikarbonat pro Einzelreiz ist bei beiden Applikationsraten signifikant größer als ohne Trasylolzusatz (Abb. 10).

3.5.3. In ein Perfusionsmedium, das bei einer Inkubation von Sekretin über die Zeit von 50 Minuten, bezogen auf einen vorangehenden i.p. Einzelreiz, eine vollständige Inaktivierung zeigt, wird

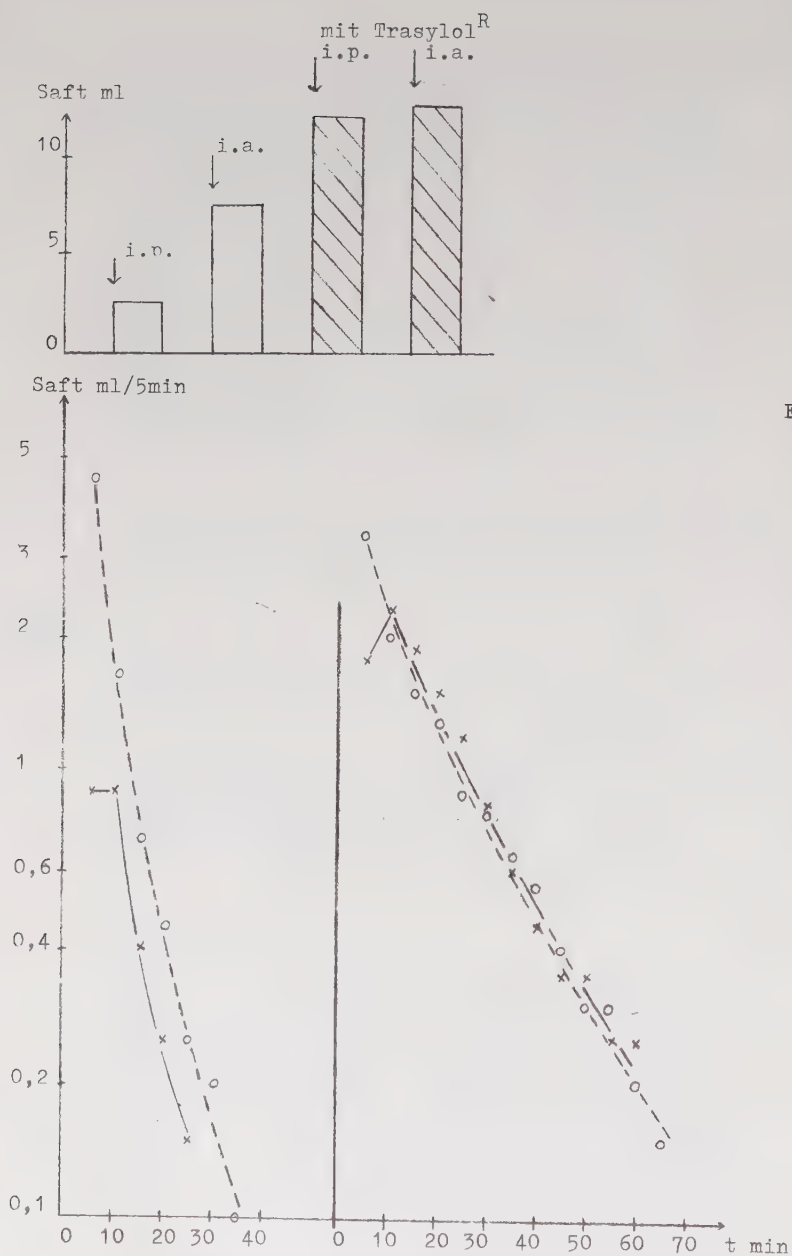
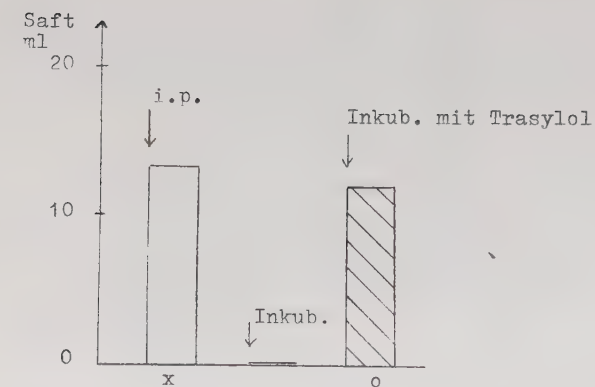


Abb.10 Vergleich von i.p. und i.a. Injektion von Sekretin mit und ohne Trasylol bezüglich Gesamtsaftmenge und Sekretionskinetik

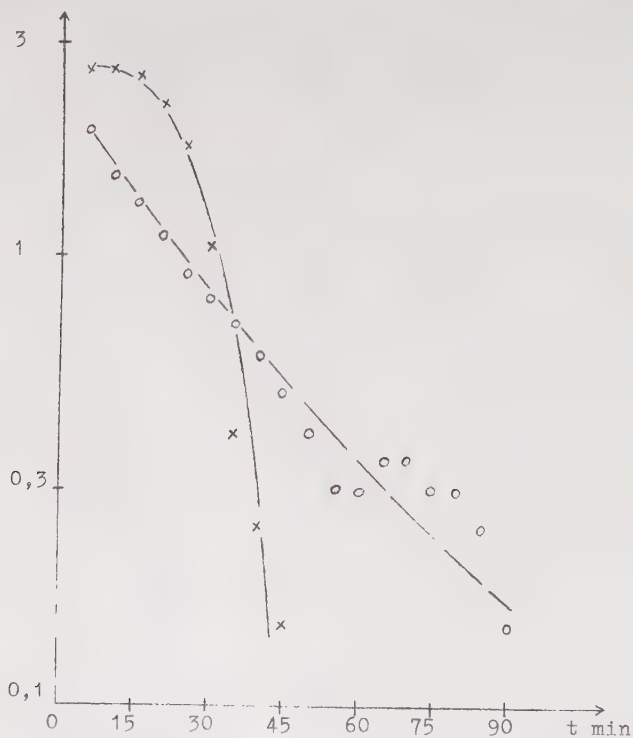
erneut unter Schutz von Trasylol^R inkubiert. Als Ergebnis erhalten wir eine annähernd totale Aufhebung der Inaktivierung (Abb. 11).

3.5.4. Dieselben Versuche werden ebenso mit dem Inaktivator aus Sojabohnen nach Kunitz und mit Benzamidin durchgeführt. Der Inaktivator aus Sojabohnen zeigt bei uns keine Aufhebung der Inaktivierung, Benzamidin ergibt, verglichen mit Trasylol^R, eine geringere, jedoch immer noch deutliche Hemmung der Inaktivierung (Abb. 12).

Die Konzentrationen von Trasylol^R und dem Inaktivator aus Sojabohnen sind mit 5 $\mu\text{Mol/l}$ äquimolar, die des Benzamidins liegt bei 1mMol/l .



Saft
ml/5min



E57

Abb.11 Beispiel der Aufhebung der Inaktivierung von Sekretin bei Inkubation in poststimulatorisches Medium durch Applikation von Trasylol in die darauffolgende Inkubation in dasselbe Medium

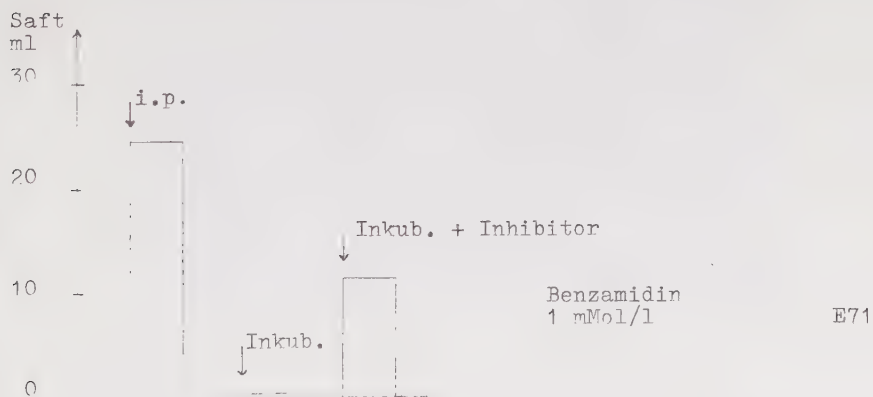
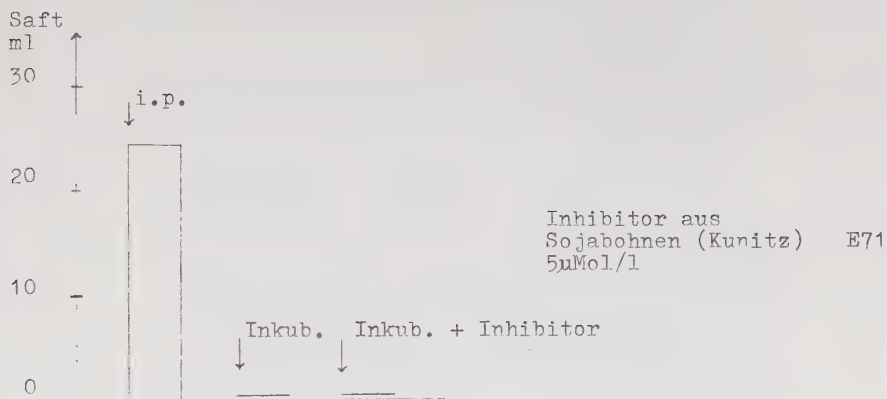
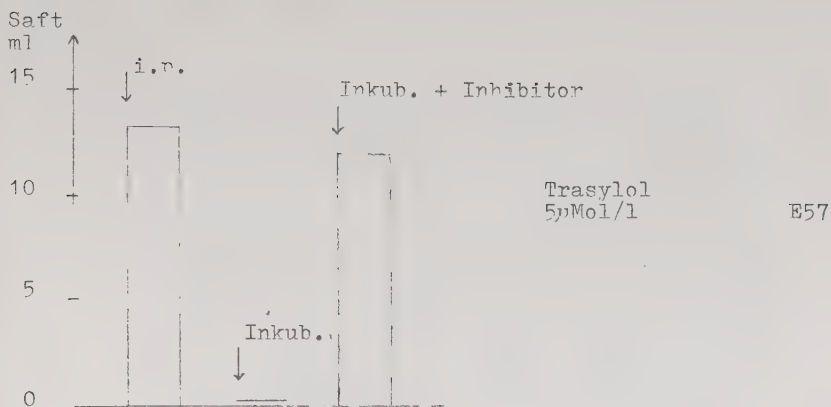


Abb. 12 Gegenüberstellung der Wirkung der 3 verwendeten Inhibitoren

4. Diskussion

4.1. Die Saftantwort in unserem in vitro Modell kann abhängig sein,

- a) von der Gesamtmenge des in dem Perfusionsmedium vorhandenen Sekretins,
- b) von der Konzentration, in der Sekretin das Organ erreicht. Außerdem muß bei der Beantwortung dieser Frage nach den Ergebnissen unserer Inkubationsversuche
- c) auch eine Inaktivierung, möglicherweise ein proteolytischer Abbau des Sekretins im Medium oder am Organ selbst berücksichtigt werden.

Die Vergleiche von i.a. und i.p. Injektion und von i.p. Applikation in verschiedene Volumina (Abb. 1 und 3) scheinen die Frage dahingehend zu lösen, daß die anflutende Sekretinkonzentration ausschlaggebend ist; bei gleichgroßer Sekretinmenge ist die Saftantwort der Sekretinkonzentration proportional. Die größte Wirkung einer definierten Sekretinmenge wird bei intraarterieller Applikation erzielt. Die Zeit zwischen der Applikation und dem Beginn der Saftsekretion (Latenzzeit) hängt, wie der Vergleich von i.p. und i.a. Injektion von Sekretin zeigt (Seite 13), von der Sekretinkonzentration ab.

Der Vergleich der Sekretionskinetik nach i.a. bzw. i.p. Injektion von Sekretin zeigt (Abb. 2), daß einerseits die i.a. Applikation rascher zu einer maximalen Sekretionsrate führt, aber andererseits der weitere Verlauf der Saft- und Bikarbonatsekretion in beiden Fällen parallel erfolgt. Hieraus resultiert, daß bei i.a. Applikation initial mehr Rezeptoren erregt werden, die dann aber einen zeitlich mit der i.p. Gabe vergleichbaren Sekretionsablauf unterhalten. Zusammengefaßt würde dies bedeuten, daß die Rezeptoren auf molarer Basis konzentrationsabhängig besetzt werden, bei i.a. Applikation demnach eine größere Zahl als bei der i.p. Injektion von Sekretin. Diese Tatsache wird bei den Experimenten über die plasmatische Inaktivierung von Sekretin erklärlich und später diskutiert.

4.2. Diese Theorie der reinen Konzentrationsabhängigkeit wird durch die in Abbildung 4 und 5 verdeutlichten Versuche bereits erschüttert. Bei einer reinen Abhängigkeit von der Initialkonzentration müßte bei den Versuchen mit und ohne Rezirkulation des Perfusionsmediums sowohl Sekretionskinetik wie auch Gesamtsaftmenge identisch sein. Beides ist nicht der Fall; die Sekretions-

kinetik mit Rezirkulation fällt ausgehend von derselben maximalen Sekretionsrate flacher ab und die Gesamtsaftmenge ist größer. Dies bedeutet; aktives Sekretin rezirkuliert und besetzt bei erneuter Organpassage noch freie oder wieder frei gewordene Rezeptoren. Es scheint nicht nur die Initialkonzentration, sondern auch die Gesamtmenge von Sekretin eine Rolle zu spielen.

- 4.3. Wenn nach diesen Ergebnissen die Gesamtmenge mitentscheidend ist für die Ausbeute an Saft und Bikarbonat, so stellt sich die Frage, warum die Applikation äquivalenter Sekretindosen in unterschiedliche Volumina oder die Injektion i.p. bzw. i.a. differente Sekretionsantworten geben.

In den Versuchen mit Trasylol^R wird der Unterschied in der Saftsekretion nach i.p. und i.a. Gabe aufgehoben. Dies deutet auf eine proteolytische Inaktivierung im Perfusionsmedium hin. Es stellt sich nun die Frage, ob

- a) im praeoperativ entnommenen Blut Sekretinin-aktivatoren praeexistent sind oder
- b) durch die Stimulation des isoliert perfundierten Organs erst freigesetzt werden.

- 4.3.1. (ad 3.4.1.) Unser sogenanntes "postopera-

tives" Perfusionsmedium setzt sich aus drei, dem Versuchstier zu verschiedenen Zeiten entnommenen Blutfraktionen zusammen,

- a) aus praeoperativ gewonnenem Blut
- b) aus dem venösen Rückfluß während der Endphase der Organpräparation
- c) aus am Ende der Operation entnommenen Blut.

Bei Einschaltung des Organs in unseren in vitro Kreislauf ist dieses Perfusat sauerstoffgesättigt. Vor Beginn der ersten Stimulation liegt eine 30-minütige Vorperiode, in der das Organ durchströmt wird und die zur Äquilibration der Temperatur, des Perfusionsdruckes, der Blutgase und des Glukosespiegels dient.

Die bei Inkubation in "postoperatives" Medium dieser Zusammensetzung stattfindende Inaktivierung ist auf multiple Einflüsse obengenannter Bedingungen zu beziehen; am wahrscheinlichsten erscheint jedoch, daß bei der Organentnahme durch Traumatisierung verschiedener Gewebe (Dünndarm, Muskulatur, Leber etc.) proteolytische Fermente via venösen Rückfluß in das Vorperiodenblut gelangen und für die Inaktivierung von 76% verantwortlich sind. Aus diesem Grunde wurde in allen weiteren Experimenten für die Versuchsperioden

ausschließlich praeoperativ entnommenes Blut verwandt.

4.3.2. (ad 3.4.2. und 3.4.3.) Die Versuche, die durch die Abbildungen 7 und 8 verdeutlicht werden, zeigen bei Inkubation von Sekretin in praeoperativ gewonnenes Perfusat

a) im Vergleich zu einem vorangehenden initialen i.p. Einzelreiz äquivalenter Sekretinmenge eine Inaktivierung von 24%

b) im Vergleich zu einer nachfolgenden äquivalenten Injektion i.p. in dasselbe Medium keine Inaktivierung.

ad a) Werden identische Sekretinmengen über Stunden wiederholt verabreicht, so liegen die Saftmengen der 1. - 3. Injektion meist geringfügig über den Gesamtmengen der nachfolgenden Sekretinreize (21). Aus diesem Grunde weist die Einschränkung um 24% der einer initialen i.p. Injektion folgenden Inkubation in praeoperatives Blut nicht unbedingt auf eine Inaktivierung durch eine praeexistente, von Greengard (3) postulierte "Sekretinase" des Blutes hin.

ad b) Durch die Identität der Sekretionsantworten einer Sekretininkubation in praeopera-

tives Perfusionsmedium und einer i.p. Injektion danach müßte man in beiden Fällen im Perfusionsmedium eine gleichgroße Inaktivierung von Sekretin fordern. Die prozentuale Größenordnung der Differenz von Sekretinaktivitäten ist mit unserem Bioassay nicht zuverlässig nachweisbar, da durch die Aufeinanderfolge von hormonalen Reizen, wie erwähnt, bereits Veränderungen der jeweiligen Hormonaktivität entstehen und somit einer konstanten Vergleichsbasis entbehren. Endgültig können diese Fragen erst durch radioimmunologische Sekretinbestimmung geklärt werden.

Wie unter 3.4.1. beschrieben, zeigte arteriell entnommenes Blut nach abgelaufenem in vivo Reiz von Sekretin identisches Verhalten mit arteriellem Blut ohne vorhergegangenen Reiz. Um eine zirkulierende Sekretinaktivität im Blut ausschließen zu können, war die Blutentnahme erst nach Ablauf des in vivo Reizes möglich. Zu diesem Zeitpunkt hatte eine Elimination von Inaktivatoren durch den Gesamtorganismus (Leber, Niere, Lunge etc.) bereits stattgefunden, so daß die Identität der beiden Blutvolumina ohne weiteres erklärlich ist.

4.3.3. (ad 3.4.4.) Wird nach einer vorangegangenen Inkubation oder einer i.p. Injektion von Sekretin die gleiche Hormonmenge über die ihnen entsprechende Sekretionsdauer von 40 - 90' im Perfusionsmedium inkubiert, so kommt es in nahezu allen Fällen zu einer 100%igen Aktivitätseinbuße. Es müssen also während eines Sekretionsprozesses aus dem Organ in das Perfusionsmedium Substanzen frei werden, die Sekretin vollständig inaktivieren oder bereits praestimulatorisch in nicht aktiver Form vorliegen. Die grundsätzliche Frage stellt sich nach der Physiologie dieser "Inaktivatoren". Spielen sie bei der Inaktivierung von Sekretin in vivo die gleiche Rolle wie im Perfusionssystem oder sind sie lediglich Ausdruck veränderter in vitro Bedingungen in einem geschlossenen Perfusionssystem eines isoliert durchströmten Organs, in dem keine Elimination dieser evt. physiologischerweise entstandenen Substanzen durch die Funktion des Gesamtorganismus möglich ist und daher aufgrund der vorliegenden Bedingungen eine besonders gravierende Effektivität dieser Substanzen besteht?

Ergebnis: Der biologische Nachweis von Sekretinaktivität ist variabel durch multiple Faktoren und daher in seiner Aussage eingeschränkt.

Die Liberierung der vollen, nicht weiter steigerbaren inaktivierenden Potenz des Perfusionsmediums nach einer einzigen initialen Stimulation ohne wesentliche vorherige Perfusatinaktivierung weist auf den engen Zusammenhang mit der sekretinstimulierten Organfunktion hin und läßt einen durch Organschädigung entstehenden Effekt als unwahrscheinlich erscheinen. Bei Inkubation von 1 - 8 IE Sekretin über 15 - 90' ergibt sich jeweils eine 100%ige Inaktivierung.

4.4.1. (ad 3.5.1.) An der Identität der Sekretinantwort bei i.a. Applikation von Sekretin ohne Rezirkulation mit und ohne Trasylol^R ergibt sich, daß die Inaktivierung von Sekretin am Organ nicht über eine, zumindest durch Trasylol^R hemmbare Organprotease stattfindet. Weitere Rückschlüsse über den Mechanismus der Abnahme der Sekretionsantwort nach stattgehabten i.a. Sekretinreiz lassen sich aus dieser Versuchsanordnung nicht stellen. Möglicherweise erfolgt die Inaktivierung des Hormons an der Target-Zelle selbst durch Bindung oder Spaltung am Rezeptor der Plasmamembran. (Abb. 9)

4.4.2. (ad 3.5.2.) Die Aufhebung der unterschiedlichen Reizantwort nach i.p. und i.a. Applikation

von Sekretin durch Trasylol^R, die zunächst auf eine Konzentrationsabhängigkeit der Sekretionsantwort nach Sekretin hinwies, zeigt, daß über eine plasmatische Inaktivierung bei Injektion von Sekretin in das Blutreservoir die aktive Sekretinmenge reduziert wird und für die Differenz verantwortlich ist.

Abbildung 10 zeigt, daß der in Abbildung 1 und 3 nachweisbare Unterschied der Saftsekretion nach i.a. oder i.p. Applikation von Sekretin durch die Gegenwart von Trasylol^R im Perfusionsmedium aufgehoben ist.

Zunächst könnte der geringere Saftfluß nach i.p. Injektion von Sekretin auf die niederere Initialkonzentration des Stimulans im Gegensatz zu intraarterieller Gabe bezogen werden. Die im geschlossenen Perfusionssystem befindliche Sekretinmenge wäre als identisch anzusehen. Aus den Trasylolversuchen ergibt sich nun, daß trotz bestehenden initialen Konzentrationsdifferenzen bei i.a. und i.p. Applikation von Sekretin die Gesamtsaftantwort in beiden Fällen identisch ist. Hieraus resultiert, daß nicht die Konzentrationsdifferenz, sondern die Gesamtmenge des im Perfusionsmedium befindlichen Sekretins für die Differenz der Reiz-

antwort verantwortlich war. Durch Trasylol^R gelang es, die Inaktivierung von Sekretin im Perfusionsmedium zu hemmen und damit die Sekretin-gesamtmenge bei i.p. und i.a. Applikation konstant zu halten. Lediglich der Unterschied in der Sekretionskinetik weist auf die Differenz und Bedeutung der initialen Sekretinkonzentration im Perfusionsmedium bei i.a. und i.p. Injektion hin.

Die Erhöhung der Saftsekretion bei i.a. Injektion von Sekretin mit Rezirkulation des Perfusionsmediums in Gegenwart von Trasylol^R im Vergleich zur vorangehenden ohne den BPTI zeigt, daß auch bei der i.a. Applikation und der in Abbildung 4 und 5 nachgewiesenen Rezirkulation von aktivem Sekretin eine gewisse proteolytische Inaktivierung im Perfusionsmedium eine Rolle spielt.

4.4.3. (ad 3.5.3.) Am deutlichsten wird die im Perfusionsmedium stattfindende Inaktivierung von Sekretin durch Inkubation nach stattgehabten Sekretionsreiz (Abb. 11). Der inhibierende Effekt des Kallikrein-Trypsin-Inhibitors Trasylol^R wird am deutlichsten durch die völlige Aufhebung dieser Inaktivierung.

4.4.4. (ad 3.5.4.) Nun gilt es, durch weitere In-

hibitoren die für die Inaktivierung verantwortliche(n) Protease(n) einzugruppieren.

Der Inhibitor Trasylol^R hemmt Trypsin, Chymotrypsin, Organkallikrein, die nichtpankreatischen Serinproteasen Plasmin und Serunkallikrein, nicht dagegen Elastase, Kathepsin G und Amino- bzw. Carboxypeptidase (22). Letztere kommen daher für die Inaktivierung von Sekretin in unserem System nicht in Frage.

Trypsin, Chymotrypsin und Elastase sind als Inaktivatoren äußerst unwahrscheinlich, da das Plasma selbst eine hohe inaktivierende Wirkung auf diese Substanzen enthält. Es kämen demnach für die Inaktivierung Organkallikrein und die nichtpankreatischen Serinproteasen Plasmin und Serunkallikrein in Frage.

Da bei unseren Versuchen im praeoperativen Blut keine Inaktivierung stattfindet, sind nichtpankreatische Proteasen unwahrscheinlich, es sei denn, sie werden durch die Organstimulierung über freigesetzte Aktivatoren (Trypsin - unwahrscheinlich) aus inaktiven Vorstufen in ihre aktiven Formen überführt.

Eine weitere Einengung soll durch den potentesten Inhibitor des Serunkallikreins - dem aus

Sojabohnen gewonnenen Kunitzinhibitor -, der zusätzlich auch Trypsin, Chymotrypsin und Plasmin hemmt, erreicht werden. In seinem Hemmspektrum wird im Vergleich zum Trasylol^R das Organkallikrein ausgespart.

Abbildung 12 zeigt keine Aufhebung der plasmatischen Inaktivierung von Sekretin durch den Sojabohneninhibitor nach Kunitz im Gegensatz zu Trasylol^R. Aus dem Unterschied der beiden Hemmspektren ergibt sich die Möglichkeit, daß das Organkallikrein mit der Inaktivierung im Zusammenhang stehen könnte. Der positive Hemmeffekt durch Benzamidin, einem potenten Inhibitor sämtlicher Serinproteasen - also auch des Organkallikreins -, weist ebenfalls in diese Richtung (2, 19, 20, 22).

Bakterielle oder lysosomale Proteasen, die in unserem in vitro System ebenfalls denkbar wären, entfallen, da sie durch keinen unserer Inhibitoren hemmbar wären.

5. Zusammenfassung

- 5.1 Im geschlossenen Perfusionssystem des isolierten, mit autologem Blut durchströmten Hundepankreas hängt die Kinetik der Saft- und Elektrolytsekretion von der Sekretinkonzentration, der gesamte Saft- und Elektrolytefflux von der Sekretinmenge ab.
- 5.2 Bei i.a. und i.p. Applikation sowie auch bei der Inkubation äquivalenter Sekretinmengen zeigt die Differenz der Gesamtmengen die unterschiedlich starke Inaktivierung des Hormons je nach Applikationsart an.
- 5.3 I.a. appliziertes Sekretin wird zu einem großen Teil sofort am Erfolgsorgan gebunden, zu einem kleinen Teil rezirkuliert es im Perfusionsmedium.
- 5.4 Die exogenes Sekretin inaktivierenden Proteasen werden im geschlossenen Perfusionssystem des mit autologem Blut durchströmten, isolierten Hundepankreas erst während der Durchströmung des stimulierten Organs liberiert, aktiviert oder gebildet.

5.5. Die Inaktivierung ist durch Trasylol hemmbar.

Durch Verwendung verschiedener Proteaseninhibitoren mit differentem Hemmspektrum besteht der Verdacht, daß die Inaktivierung von Sekretin im Perfusionssystem des isoliert durchströmten Organs auf das Organkallikrein zurückgeführt werden kann. Weitere Untersuchungen zur Sicherung und Aufklärung der Proteasennatur der "Sekretininaktivatoren" sind notwendig.

6. Literaturangaben

- (1) Bridgewater, A.B., Kuroyanagi, Y.,
Chiles, T., and Necheles, H.:
Secretin inactivating enzyme in liver
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 110:
852 - 855 (1962)
- (2) Fritz, H., Hutzler, M., Hüller, I.,
Wiedemann, M., Stahlheber, H., Lehnert, P.,
Forell, M.-M.:
Über das Sekretionsverhalten der spezifischen Trypsininhibitoren und des Kallikreinogens beim Pankreas von Hund und Mensch
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. Bd. 348,
S. 1575 - 1578, Dezember 1967
- (3) Greengard, H., Stein, I.F., jr., and
Ivy, A.C.:
Secretinase in blood serum
Amer. J. Physiol. 133: 121 - 127 (1941)
- (4) Greengard, H., Stein, I.F., jr., and
Ivy, A.C.:
Modification of the pancreatic response to
secretin by urine and urine concentrates
Amer. J. Physiol. 134: 245 - 250 (1941)

- (5) Hammarsten and Agren
J. Physiol. 90: 330 (1937)
zitiert nach (13)
- (6) Hart, J.C., Clarke, J.S.
Am. Surg. v 25: 857 (1959)
zitiert nach (1)
- (7) Haverbeck, B.J., Dyce, B., Bundy, H. and
Edmondson, H.A.:
Trypsin, trypsinogen and trypsininhibitors
in human pancreatic juice
Amer. J. Med. 29: 424 - 433 (1960)
- (8) Lehnert, P., Stahlheber, H., Forell, M.-M.,
Dost, F.H., Fritz, H., Hutzal, M. und
Werle, E.:
Bestimmung der Halbwertszeit von Sekretin
Klin. Wschr. 47: 1200 - 1204 (1969)
- (9) Lehnert, P., Stahlheber, H., Forell, M.-M.,
Fritz, H., Hutzal, M. und Werle, E.:
Kinetics of exocrine pancreatic secretion
Digestion 6: 9 - 22 (1972)
- (10) Lehnert, P., Stahlheber, H., Forell, M.-M.,
Füllner, R., Frühauf, S., Fritz, H.,
Hutzal, M. und Werle, E.:

Studies on the elimination of secretin and
cholecystokinin with regard to the kinetics
of exocrine pancreatic secretion
Digestion 11: 51 - 63 (1974)

- (11) Mellanby, J.:
J. Physiol. v 61: 849 (1926)
zitiert nach (12)
- (12) Necheles, H., Ogawa, T., Chiles, T. and
Levinson, M.:
Effect of secretin given into the portal
or peripheral vein
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 102:
110 - 112 (1959)
- (13) Rogers, G.E.:
Encymatic inactivation of secretin
Nature v 167: 771 (1951)
- (14) Schön, H., Rössler, B. und Henning, N.:
Über die Untersuchung der exkretorischen
Pankreasfunktion
Klin. Wschr. 39: 217 (1961)

- (15) Scribner, B.H. and Caillouette, J.C.:
Improved method for the bedside determination
of bicarbonate in serum
J. amer. med. Ass. 155: 644 - 648 (1954)
- (16) Skillman, J.J., Silen, W. and Harper, H.A.:
Role of the liver in secretin inactivation
Amer. J. 202: 347 - 348 (1962)
- (17) Way, L.W., Johnson, L.R. and Grossman, M.I.:
Comparison of pancreatic response to portal
and systemic venous administration of
secretin, cholecystochinin and caerulein
Fed. Proc. 28: 274 (1969)
- (18) Weber, H.:
Mikromethode zur Bestimmung der Pankreaslipase
im Serum
Dtsch. Med. Wschr. 90: 1170 (1965)
- (19) Werle, E.:
Zur Biochemie des Trasylol
Aspekte der Trasyloltherapie

- (20) Werle, E. and Zickgraf-Rüdel, G.:
Natural proteinase inhibitors
Distribution, specificity, mode of action and
physiological significance
Z. klin. Chem. und klin. Biochem. 10. Jg.:
139 - 150 (1972)
- (21) Wiesmeth, A.:
Die hydrokinetische Funktion des isoliert
perfundierten Hundepankreas
München Diss. (1973)
- (22) Handbuch für Innere Medizin
(Band 6) Pankreas
Verlag München Berlin London in Druck (1976)

Lebenslauf

Rolf Walter Dombrowsky	geb. am 24. November 1948 in München
Eltern	Dr. med. Kurt Walter Dombrowsky Arzt für Allgemeinmedizin Traute Dombrowsky, geb. Schmidt geschieden seit 1963
Volksschule	von 1954 - 1958 an der Volksschule an der Wilhelmstraße in München
Oberschule	von 1958 - 1967 am Oskar-von-Miller- Gymnasium in München 1967 Reifeprüfung in München
Hochschule	von 1967 - 1973 Studium an der Uni- versität München von 1967 - 1968 2 Semester Veterinär- medizin von 1968 - 1973 Humanmedizin 1973 Staatsexamen
Medizinalassistenten- zeit	von August 1973 bis März 1974 im Knappschaftskrankenhaus Hausham von April 1974 bis Juli 1974 an der 2. Medizinischen Klinik der Univer- sität München
Approbation	August 1974
Dissertation	seit 1970 mit vorliegender Arbeit befaßt
verheiratet	seit 11. Oktober 1974 mit der deutschen Staatsangehörigen und Arzthelferin Renate Zandler
Kinder	Tanja Dombrowsky, geb. 24.2.1976

